



TITLE:

High Frequency Production of T Cell-Derived
iPSC Clones Capable of Generating Potent
Cytotoxic T Cells(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Nagano, Seiji

CITATION:

Nagano, Seiji. High Frequency Production of T Cell-Derived iPSC Clones Capable of
Generating Potent Cytotoxic T Cells. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22347>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	永 野 誠 治
論文題目	High Frequency Production of T Cell-Derived iPSC Clones Capable of Generating Potent Cytotoxic T Cells (T 細胞から作製した iPSC 細胞は高頻度で強力なキラーT 細胞を再生する能力を有する)		
(論文内容の要旨)			
<p>がんに対する T 細胞養子免疫療法では、体外で増幅させた TIL (tumor infiltrating lymphocyte) を再度患者体内に戻す方法や、外来性の受容体遺伝子を採用したリンパ球に遺伝子導入し増幅させたものを再び戻す方法がとられるが、どちらも自家輸注の系であるためコストがかかり、時間がかかる、患者の T 細胞の質に依存するなどの問題がある。iPS 細胞技術を用いて T 細胞を増幅させることができればこれらの問題は解決できる。</p> <p>T 細胞は VDJ 遺伝子再構成がすでに完了しているため、T 細胞を初期化することで作製された iPSC 細胞 (TiPSC) はその構造がそのまま引き継がれる。この TiPSC を T 細胞へ分化させることにより同一の特異性をもつ T 細胞を多量に作製できるため、T 細胞のクローニングおよび増幅法として用いることができる。ただしこの戦略では、得られた iPSC 細胞株において T 細胞を生成する能力とクローニングされた TCR の性能 (affinity) にばらつきが生じる。また、他家輸注の系で用いる場合には、再生 T 細胞がアロ反応性を示して使えない可能性がある。これらの問題を検証するための feasibility test として、健常ドナーから MART-1 特異的 TiPSC を 8 株樹立し、そのうちいくつかのクローンが実際に使えるかという点を検証した。</p> <p>T 細胞誘導効率にクローン間で差を認めたが、およそ 50%の頻度で十分な T 細胞分化能を持つ iPSC 細胞株が樹立できていた。また、TCR affinity にばらつきを認めるもの、再生 T 細胞の細胞傷害活性に大きな違いはなかった。つぎに、5 株の再生 T 細胞と 10 株の HLA 不一致標的細胞を用いてアロ反応性を調べた。これは、5 つの TCR 対 26 のミスマッチ HLA クラス I アリル の系であったため、合計 130 の TCR-alloHLA のペアのテストを実施したことになる。結果として、その中でアロ反応を示したのはわずか 1 組であった。従って、このようなアロ反応が生じる頻度は低いと思われる。よって、自家の系でも他家の系でも、有能な iPSC 細胞株が得られるかどうかは T 細胞誘導効率のよい株を得る頻度が重要なポイントとなる。同様の実験を複数回行った結果も合わせて、50%程度の確率で誘導効率の良いクローンが得られると最終的に結論づけられたため、この結果をもとに最終的に何株の iPSC 細胞株の準備が臨床上妥当かを計算した。T 細胞療法に有用な iPSC 株を提供するためには、自家輸注の系の場合は 5 株、他家輸注の系であればアロ反応の回避のためにもう 1 株を用意しておけばよいため 8 株を作製すれば、95%の確率で有用な株を最低 1 株は樹立できると考えられた。</p>			

（論文審査の結果の要旨）
<p>本論文では、T 細胞を初期化して作製した iPS 細胞を材料にして抗原特異的 T 細胞を多量に作製する戦略の実現可能性を検証した。まず、異なる T 細胞レセプター（TCR）を保持する複数の iPS 細胞クローンを樹立した。これらの中で、十分な T 細胞分化能を持つクローンの頻度は約 50%であった。また、各クローンが有する TCR が示す抗原への親和性に差があるにも関わらず、再生したキラー T 細胞クローン間で抗原特異的な細胞傷害活性能には大きな差が認められなかった。5 株の再生 T 細胞と 10 株のアロ標的細胞を用いて合計 130 ペアの TCR 対不一致 HLA 分子でアロ反応性を調べたところ、アロ反応を示したのはわずか 1 組であった。まとめると、50%の頻度で再生 T 細胞療法に使用可能な iPS 細胞クローンが得られ、他家移植で用いる場合はスペアを一つ用意するだけで十分と考えられた。従って、T 細胞療法に有用な iPS 細胞株を 95%の確率で最低 1 株得るためには、自家輸注の系の場合は 5 株、他家輸注の系な場合は 8 株を作製すれば良いと計算された。これは十分対応が可能な数字であり、この戦略の妥当性が支持された。</p> <p>以上の研究は、再生 T 細胞の応用に向けた技術的課題の解決に貢献し、新たながん免疫細胞治療への発展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 1 月 29 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日 以降